



Иммуннологические маркеры
аутоиммунных заболеваний ЖКТ



Диагностика аутоиммунной патологии гастроэнтерологических заболеваний

- ▣ **Неспецифический язвенный колит**
- ▣ **Болезнь Крона** (гранулематозный колит)
- ▣ **Хронический атрофический гастрит**
- ▣ **Билиарный цирроз**
- ▣ **Целиакия**



Неспецифический язвенный колит

- **Неспецифический язвенный колит (НЯК)** - это хроническое рецидивирующее воспалительное заболевание кишечника неустановленной этиологии, которое характеризуется наличием диффузного воспалительного процесса в слизистой оболочке толстой кишки.



- Генетический фактор (система HLA: обнаружены генетические HLA- маркеры НЯК, БК в различных популяциях;
с помощью HLA – ДНК генотипирования выявлены маркеры предрасположенности и устойчивости к НЯК (аллель DRB1*01 ген. маркер предрасположенности к началу заболевания в молодом возрасте, аллель DRB1*08 ассоциирован с дистальными формами и возникновением болезни в возрасте 30-49 лет).



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

- **Цели** проведения лабораторных исследований:
 - оценка активности заболевания;
 - своевременное распознавание внекишечных проявлений НЯК (например, первичного склерозирующего холангита) или осложнений;
 - оценка динамики заболевания и эффективности проводимого лечения;
 - диф-диагностика



□ **Перечень лабораторных тестов**

- Лабораторные исследования могут быть использованы в основном для оказания помощи, чтобы исключить другие диагнозы и оценки состояния питания пациента. Однако серологические маркеры могут помочь в диагностике воспалительных заболеваний кишечника.

I. Клинический анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы. Об активности воспалительного процесса можно судить на основании повышения уровня СОЭ (более 33 мм/час), увеличения содержания лейкоцитов (особенно со сдвигом лейкоцитарной формулы влево). При наличии соответствующей клинической картины можно также судить о возможности развития осложнений. Наличие тромбоцитоза (более 350 000/мкл) может опосредованно свидетельствовать о тяжести течения заболевания. При тяжелых формах НЯК отмечают развитие анемии.

□



□ Биохимический анализ крови.



2.1 Признаком первичного склерозирующего холангита может служить активность щелочной фосфатазы более 125 U/L. Исследование прочих ферментов, (трансаминаз, амилазы и др.) также способно дать объективное представление о функциональном состоянии печени, поджелудочной железы, что очень важно для исключения угрозы развития внекишечных осложнений (см. также "Холангит" - K83.0).



2.2 При нарушении процессов всасывания в кишечнике, выявляют изменение в сыворотке крови нормального содержания микроэлементов (магний, калий), альбумина, витаминов и других важнейших биологических веществ. Таким образом, важным элементом оценки трофологического статуса больных является исследование показателей белкового, углеводного, жирового обмена.



Уровень рАНСА (перинуклеарных антинейтрофильных цитоплазматических антител) с высокой частотой повышается при НЯК. Данное исследование имеет важное значение в дифференциальной диагностике НЯК и болезни Крона. Нахождение АНСА при НЯК имеет чувствительность 50%, специфичность - 94%. При болезни Крона АНСА определяется только у 40% пациентов.



Копрология:

- выявление наличия гельминтов и их яиц;
- оценка наличия и степени выраженности гематохезии в процессе наблюдения больного;
- бактериологическое исследование кала - для исключения инфекционного характера заболевания на первоначальном этапе обследования;
- исследование кала на токсин *C. difficile* ввиду высокой частоты развития у больных

НЯК антибиотикоассоциированного

▶ **колита на фоне лечения антибиотиками.**

Болезнь Крона

- ▣ **Болезнь Крона** - хроническое рецидивирующее заболевание с трансмуральным гранулематозным воспалением и деструктивными изменениями слизистой оболочки. Для болезни Крона характерны сегментарность поражения желудочно-кишечного тракта и наличие системных проявлений.



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

- **Обязательные лабораторные исследования:**
 - **общий анализ крови**, тромбоциты, Ht, Hb (при отклонении от нормы исследования повторять 1 раз в 10 дней);
 - **кал на яйца глистов** и простейших для дифференциальной диагностики;
 - **исследование кала на токсин** *Cl. difficile* для дифференциальной диагностики и диагностики осложнений болезни Крона;
 - **посев кала** на бактериальную флору для диагностики синдрома избыточного бактериального роста;
 - **С-реактивный белок**, как маркер воспаления и/или обострения;
 - **РНГА на тифо-паратифозную** группу;
 - **альбумин** (недостаточность питания);
 - **общий анализ мочи** для диагностики поражения почек.
-
- 

Дополнительные лабораторные исследования:

- - витамин В12 для определения причин вероятной анемии;
 - фолиевая кислота для определения причин вероятной анемии;
 - - определение уровня перинуклеарных антинейтрофильных цитоплазматических антител (pANCA) для дифференциальной диагностики с неспецифическим язвенным колитом;
 - определение уровня антител к *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) для подтверждения диагноза и дифференциальной диагностики с неспецифическим язвенным колитом;
 - - определение в кале кальпротектина - специфического белка, как маркера воспаления и онкологических процессов в кишечнике;
 - фибриноген, фактор V, фактор VIII, антитромбин III, как маркеры гиперкоагуляции, свойственной болезни Крона.
-



Хронический атрофический гастрит

- ▣ **Хронический атрофический гастрит (ХАГ)** является морфологическим, а не клиническим, диагнозом. Часто гистологические изменения не коррелируют с клиникой, а только визуально обнаруживаемая атрофия (истончение) слизистой не подтверждается при исследовании биоптатов.



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

- 1. Клинический анализ крови. Изменения лабораторных показателей для хронического хеликобактерного гастрита не характерны. В случае атрофического гастрита, сочетающегося с В12-дефицитной анемией, возможны снижение содержания гемоглобина, увеличение цветового показателя эритроцитов, появление мегакариоцитов.
 - 2. Клинический анализ мочи.
 - 3. Клинический анализ кала и анализ кала на скрытую кровь.
 - 4. Определение группы крови и резус-фактора.
-



□ 5. Выявление инфекции *H. pylori*.

□ 5.1 Биохимические методы:

- быстрый уреазный тест;

□ - уреазный дыхательный тест с ¹³C-мочевинной;

□ - аммонийный дыхательный тест.

□ 5.2 Морфологические методы:

□ - гистологический метод: выявление *H. pylori* в биоптатах слизистой оболочки антрального отдела и тела желудка;

□ - цитологический метод: выявление *H. pylori* в слое пристеночной слизи желудка.

□ 5.3 Бактериологический метод с выделением чистой культуры и определением чувствительности к антибиотикам.

□ 5.4 Иммунологические методы:

□ - выявление антигена *H. pylori* в кале (слюне, зубном налете, моче);

□ - выявление антител к *H. pylori* в крови с помощью иммуноферментного анализа.

□ 5.5 Молекулярно-генетические методы - полимеразная цепная реакция (ПЦР):

- исследование биоптатов слизистой оболочки желудка;

□ - исследование кала, зубного налета.



-
- 6. Морфологические исследования (гистологическое исследование биоптатов).

 - 7. Иммунологические исследования: антитела к париетальным клеткам желудка или внутреннему фактору. Обнаружение АТ типично для хронического аутоиммунного гастрита (гастрита типа А, фундального гастрита).

 - 8. Биохимические исследования крови: содержание общего белка, альбумина, холестерина, глюкозы, билирубина, трансаминаз, амилазы, сывороточного железа, определение пепсина и пепсиногена в крови (снижение последнего ниже порогового значения свидетельствует об атрофии тела желудка).
-
- 

Комплексная одномоментная лабораторная диагностика

Одним из примеров одномоментной комплексной лабораторной диагностики и скрининга гастрита является "ГастроПанель Biohit HealthCare".

- Достоверность результатов диагностики атрофического гастрита с помощью "ГастроПанели" в сравнении с гистологическим методом исследования:
 - - общая достоверность - 81% (77-85%);
 - - чувствительность - 79% (69-89%);
 - - специфичность - 91% (88-94%);
 - - PPV - 64% (54-75%);
 - - NPV - 93% (90-96%);
 - - PPV - положительное прогностическое значение;
 - - NPV - отрицательное прогностическое значение.
-



Биллиарный цирроз

- ▣ **биллиарный цирроз печени** - хроническое прогрессирующее воспалительное заболевание печени, при котором первоначальное поражение внутридольковых и септальных желчных протоков с их разрушением ведет к дуктопении, холестазу и в терминальной стадии - к развитию цирроза печени. Заболевание, вероятно, имеет аутоиммунную природу.



- Наиболее распространенной точкой зрения считается аутоиммунная природа заболевания. Существует очень высокий уровень аутоантител, наиболее характерно направленных против митохондриальных антигенов (антимитохондриальные антитела - АМА) у более чем 95% пациентов. Непосредственным механизмом гибели клеток желчного эпителия служит апоптоз, который может осуществляться как Т-хелперами I типа, так и секретруемыми этими клетками цитокинами (ИФН-γ, IL-2).



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

1. Щелочная фосфатаза (ЩФ) - уровень повышен, как правило, до 10 раз и более.
 2. Повышение ГГТП.
 3. Гипербилирубинемия - характерна для поздних стадий первичного билиарного цирроза.
 4. Возможно повышение уровней гамма-глобулинов с резким повышением уровня IgM, за счет этого возможно повышение СОЭ.
 - 5. Пограничные уровни АЛТ (цитолитический синдром мало выражен), колебания трансаминаз в пределах 150-500% нормы. Соотношение ЩФ/АСТ, как правило, менее 3.
-



□ **На поздних стадиях первичного билиарного цирроза (ПБЦ):**

- уровень липидов и холестерина в крови может быть увеличен, с увеличением фракции липопротеинов высокой плотности (HDL);

□ - снижение альбумина;

□ - увеличение протромбинового времени;

□ - тромбоцитопения.

□



□ Определение аутоантител

1. Диагностика базируется на определении АМА. Для больных с первичным билиарным циррозом специфичны антитела анти-M2 (выявляются у 90-95% больных). Признак является высокоспецифичным. АМА-позитивные и АМА-негативные формы ПБЦ не имеют отличий в гистологии и клинике заболевания.

□ 2. ANA выявляются у 20-50 % пациентов с первичным билиарным циррозом.

□ 3. Некоторые пациенты имеют клинические, биохимические и гистологические признаки ПБЦ, но их сыворотки являются АМА-негативными. Обычно в этом случае диагностируется аутоиммунный холангит, но не исключается и одновременное наличие у них ПБЦ. Вопрос синдрома перекрытия для этих патологий неясен.



Аутоиммунный гепатит

- Изменения лабораторных данных, характерные для ауто- иммунного гепатита, включают в себя повышение уровня гамма-глобулинов или иммуноглобулина G (IgG) в 1,5 раза по сравнению с нормальным, а также появление в сыворотке крови аутоантител. Аутоантитела представляют собой циркулирующие белки, не обладающие ни органной, ни видовой специфичностью. Если при повторных исследованиях эти антитела обнаруживаются в повышенных титрах (у взрослых $\geq 1:80$, у детей $\geq 1:40$) и, кроме того, выявляется повышенный уровень гамма-глобулина и трансаминаз, то диагноз аутоиммунного гепатита вполне вероятен.
- Среди аутоантител наиболее важными являются аутоан- титела к гладкой мускулатуре, или антигладкомышечные антитела (АГМ [SMA]), и антинуклеарные антитела (АНА [ANA]). АГМ обнаруживаются несколько реже, чем АНА, но зато в титрах 1:100 и выше, в связи с чем АГМ считаются более специфичными для АИГ, чем АНА. АГМ выявляются почти у 80% детей с АИГ. АГМ направлены против актина микрофиламентов миоцитов и перекрестно реагируют с актин-содержащими микрофиламентами гепатоцитов. Более специфичными для АИГ I типа являются антиактино- вые антитела (AAA [AAA]), которые, однако, определяются лишь в немногих специализированных лабораториях (табл. 3.). Антинуклеарные антитела (АНА) обнаруживаются у 40–80%



-
- Среди аутоантител наиболее важными являются аутоантитела к гладкой мускулатуре, или антигладкомышечные антитела (АГМ [SMA]), и антинуклеарные антитела (АНА [ANA]). АГМ обнаруживаются несколько реже, чем АНА, но зато в титрах 1:100 и выше, в связи с чем АГМ считаются более специфичными для АИГ, чем АНА. АГМ выявляются почти у 80% детей с АИГ. АГМ направлены против актина микрофиламентов миоцитов и перекрестно реагируют с актин-содержащими микрофиламентами гепатоцитов. Более специфичными для АИГ I типа являются антиактино-вые антитела (ААА [AAA]), которые, однако, определяются лишь в немногих специализированных лабораториях (табл. 3.). Антинуклеарные антитела (АНА) обнаруживаются у 40–80%
-
- 

□ Антинуклеарные антитела (АНА) обнаруживаются у 40–80% больных аутоиммунным гепатитом и являются наиболее часто выявляемыми при АИГ антителами. Они определяются у взрослых и детей при АИГ I типа, реже – при АИГ 2 типа. Антигенами для этих антител, служит гетерогенная группа различных веществ, таких как ядерная ДНК, функциональные и структурные белки ядра или центромеры. АНА также обнаруживаются (хотя и в более низкой концентрации) и при других аутоиммунных заболеваниях, не связанных с поражением печени.



Типичные (но не патогномоничные) антитела при аутоиммунном гепатите.

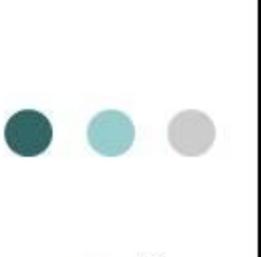
Аутоантитела	Антигены-мишени
• АНА (ANA): антинуклеарные антитела	ДНК, функциональные и структурные белки ядра
АГМ (SMA): антитела к гладкой мускулатуре	Актин-содержащие филаменты, тропонин, тропомиозин, α -актинин
ЛКМ-1: печеночно-почечные микросомальные антитела	• Цитохром P450 2D6
• SLA/LP: антитела к растворимому антигену печени	UGA-супрессор переноса РНК-ассоциированного белка
ASGPR: Антитела к асиалогликопротеиновому рецептору	Асиалогликопротеиновые рецепторы мембраны
ААА (AAA): антиактиновые аутоантитела	Актин
ANCA, ЛКМ-2, ЛКМ-3, АМА и др.	

- Печеночно-почечные микросомальные антитела (ЛКМ-1) особенно часто обнаруживаются у больных аутоиммунным гепатитом 2 типа. АНА и АГМ у таких пациентов могут отсутствовать. Наиболее часто это заболевание встречается у детей и подростков. Антигеном-мишенью для ЛКМ-1 является цитохром P450 2D6 (CYP-2D6) рибосом эндоплазматической сети гепатоцитов. Интересно, что ЛКМ-1 встречаются также и у больных хроническим вирусным гепатитом С. С другой стороны, ЛКМ-2 обнаруживаются при аутоиммунном гепатите 2 типа, индуцированном приемом лекарственных препаратов, тогда как ЛКМ-3 выявляются примерно у 13% больных с вирусным гепатитом D (HDV).



Целикия (глютеновая энтеропатия) является системным аутоиммунным заболеванием проявляющаяся глютен-зависимой симптоматикой, антителами к тканевой трансглутаминазе 2 типа ТТГ2 и энтеропатией (Husby et al. JPGN 2012). Целиакия является классическим аутоиммунным заболеванием, поскольку характеризуется тканевым иммунным воспалением, возникает у лиц с определенным набором генов системы HLA и часто сочетается с другими аутоиммунными расстройствами.





Диагностическое значение серологических маркеров при целиакии

- Антитела к альфа-глиадину **класса IgG** высокочувствительны (90-95%), но неспецифичны, антитела **класса IgA** обладают низкой чувствительностью (40%)
- Для диагностики рекомендуется использовать только новые тесты для выявления антител к **дезамидированным пептидам глиадина (DPG)** с улучшенными характеристиками
- **Антитела к ТкТГ классов IgA и IgG** обладают высокой чувствительностью (95-99%), но неспецифичны в низких титрах
- Антитела к **эндомизину класса IgA** являются «золотым стандартом» серодиагностики, подтверждают выявление антител к ТкТГ IgA
- **Антитела к ретикулину** отмечаются у 40% больных
- Титры всех аутоантител **снижаются** при соблюдении безглютеновой диеты